

EG (v/v) for 30 sec. The blastocysts were then loaded in straw, placed in cold nitrogen vapor for 3 min and plunged into LN2 (-196). One-step dilution within the straw was done in 25 and/or 36 water baths for different times (from 1 min to 3.5 min).

**Results:** In vitro survival of vitrified embryos was 76.9~93.5% after the one-step dilution. However, 48 h after thawing, the in vitro development rates in the beyond hatching or hatched state in 1 min dilution group (the quick one-step dilution method; 73.3 and 56.7%, respectively) were better than those of the other treatment groups (55.6~61.3% and 8.1~36.1%, respectively). Direct transfer of quick one-step diluted embryos into recipient cows resulted in an overall pregnancy incidence of 33.3% (12/36). The good pregnancy incidence was obtained when the recipients estrus cycle was one day earlier than the age of the transferred embryos (53.3 vs. 25.0~27.3%), irrespective of synchronization methods or condition of the corpus luteum. We obtained nine offspring from 12 pregnant cows.

**Conclusions:** Therefore, quick one-step dilution and direct transfer of vitrified bovine IVM/IVF/IVC blastocysts could be applied as an efficient method for the field trials.

## P-10                    중대 뇌동맥 폐색 뇌졸중 (Focal Ischemia) 동물 모델 쥐에 대한 인간 배아줄기세포 이식 효과

윤지연 · 심인섭<sup>1</sup> · 김은영 · 정길생<sup>2</sup> · 이원돈<sup>3</sup> · 박세필 · 임진호<sup>3</sup>

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소, 경희대학교 동서의학대학원<sup>1</sup>,  
건국대학교<sup>2</sup>, 마리아 병원<sup>3</sup>

**Background & Objectives:** 혈관 폐색에 의한 인지 및 기억장애 동물모델에서 뇌졸중 치료제로써 인간배아줄기 세포의 신경세포 보호효과 및 기억력증진에 미치는 효과를 조사하고자 실시하였다.

**Method:** 중대 뇌동맥 폐색 (MCA)에 의한 쥐의 동물모델은 Sprague Dawley계 흰 쥐 (260~300 g)의 국소 중대뇌동맥을 일시적으로 폐색시켜 만들었다. 이 연구 (미국 국립보건원에 등록된 MB03세포)에 사용된 인간배아줄기세포는  $3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 밀도의 배양접시 내에서 4일 동안 embryoid bodies (EBs)의 형성을 유도하고 추가적으로 4일 동안 RA ( $10^{-6}$  M, sigma)에 노출하였다. 분리된 세포들은 0.1% gelatin coated dish에 평판 배양하고 14일 동안 N2 배양액에서 분화시켰다. 줄기세포이식은 입체정위 수술장치를 이용하여 각 실험군의 쥐 뇌의 내측 중격위치에 주입하였다. 이렇게 만들어진 실험군은 수중미로학습, 방사성 미로학습을 이용하여 인간배아줄기세포의 인지 및 기억증진의 기억장애의 기능회복의 효능을 검토하였다.

**Results:** 수중 미로 학습의 획득시행에서 중풍 유발군이 모의 시술군에 비해 도피대에 도달하는데 소요되는 시간이 유의하게 증가하였으며, 인간배아줄기세포 처치가 학습획득수행에 현저한 증진효과를 보여주었다. 수중 미로 학습의 검사시행에서 중풍 유발군이 파지검사에서 모의 시술군에 비해 도피대를 제거하고 도피대 영역에 머무르는 정도가 증가하였으며 공간기억력에 대한 증진효과를 보였다. 또 각 군의 조직을 UV로 관찰한 결과 신경세포의 생성이 증가되었음을 보여주었다.

**Conclusions:** 따라서, 본 연구는 신경세포로 분화된 인간배아줄기세포 이식은 혈관 폐색 동물모델에서의 인지 및 기억력 개선 치료에 이용될 수 있음을 나타낸다.